

ANÁLISE DO PERFIL METABÓLICO DE PIMENTAS *Capsicum frutescens* L.

FRANCINE BONEMANN MADRUGA¹; BIANCA CAMARGO ARANHA², ROSA LÍA BARBIERE³, JULIANA SEVERO CASTELO BRANCO³, FÁBIO CLASEN CHAVES³

¹ Graduando em Agronomia- UFPEL 1 –francinebonemann@hotmail.com

² Mestranda em Ciência e Tecnologia- UFPEL – bianca_camargo@live.com

³ Pesquisadora da Embrapa Clima Temperado – barbieri@cpact.embrapa.br

³ Pós-doutoranda da Embrapa Clima Temperado –jcbrancov@gmail.com

³ Professor do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial- UFPEL – fabio.chaves@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

Pimentas do gênero *Capsicum* spp. são nativas do continente americano e possuem importância como especiarias desde a época do descobrimento da América pelos colonizadores, quando os nativos utilizavam os frutos de *Capsicum* na condimentação e conservação de alimentos e com fins medicinais (Costa et al., 2008). Os colonizadores observaram que os frutos desse gênero tinham maior grau de pungência em relação às pimentas do gênero *Piper* e o incluíram em suas especiarias, inserindo primeiramente na Europa e hoje é um condimento mundialmente cultivado (REIFSCHNEIDER, 2000).

As plantas do gênero *Capsicum* spp. se desenvolvem como arbusto perene em regiões tropicais (BAE et al., 2012). Possuem tanto capacidade de auto fecundação como a de polinização cruzada, e mais de 30 espécies já foram identificadas. Dentre as espécies domesticadas tem-se: *Capsicum annuum*; *C. baccatum*; *C. chinense*; *C. frutescens* e *C. pubescens*. (REIFSCHNEIDER, 2000; RIBEIRO e REIFSCHNEIDER, 2008; ZENI e BOSIO, 2011).

Pimentas *Capsicum frutescens* L. apresentam na sua floração duas ou mais flores por nó, corola de coloração branca e roxa, anteras azuis, além de frutos pequenos com pigmentação vermelha quando maduros e verdes quando imaturos, formato alongado, parede muito delgada, polpa mole (Figura 1) (Bomtempo, 2007). Dentre os tipos mais populares da espécie *C. frutescens* L. estão a pimenta malagueta e a pimenta tabasco, originadas da América latina (SOUZA & CASALI, 1984). Estas pimentas são muito utilizadas na culinária devido sua picância, na preparação de pastas, molhos e extratos concentrados que podem trazer certos benefícios à saúde. O cultivo da pimenta pode ajudar os produtores dando-lhes uma rentabilidade tanto na elaboração como na venda dos produtos. (HOWARD e WILDMAN, 2007).



Figura 1 - Pimenta *C. frutescens*. Foto: Bianca Camargo Aranha

A caracterização química dos frutos permite o conhecimento de seu potencial para diversos fins. O perfil metabólico de frutos de *Capsicum frutescens* L. permite o conhecimento amplo dos compostos presentes em determinado extrato e contribui para caracterização do potencial bioativo e associação com as características agrônômicas das plantas (REIFSCHNEIDER, 2000). Este estudo teve como objetivo analisar o perfil metabólico de um extrato metabólico de um acesso de *Capsicum frutescens* L. do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Clima temperado, Pelotas, RS.

2. METODOLOGIA

Analizou-se um acesso de *C. frutescens* L., obtido do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de *Capsicum* da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. O acesso foi coletado no campo experimental da Embrapa Clima Temperado no período da manhã, entre os meses de fevereiro a maio na safra de 2014. Após a coleta, os frutos foram transportados até o laboratório para separação de frutos com lesões e folhas. Os frutos sadios removidos do pedúnculo foram congelados a -18°C .

Para análise do perfil metabólico 30 mg de amostra de pimenta liofilizada foram extraídos com 1,400 mL de metanol HPLC (mantido a -20°C) e levado ao vortex durante 10 segundos. Em seguida foram adicionados 60 μL de ribitol ($0,2\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ em H_2O Ultra Pura) e 10 μL de antrona ($1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ de Clorofórmio) como padrões internos e as misturas foram colocadas em termomisturador por 10 minutos a 70°C e 950 rpm. As amostras foram centrifugadas durante 10 minutos a 15°C e todo o sobrenadante foi transferido para outros tubos nos quais se adicionou 750 μL de clorofórmio HPLC (-20°C) e 1,5 mL de água a 4°C e agitou-se em vortex por 10 segundos. As amostras foram então centrifugadas por 15 minutos a 15°C para separação das fases. A fração superior foi constituída de água e metanol enquanto a fração inferior continha de clorofórmio. Transferiu-se uma alíquota de 150 μL da fase superior (fração polar A) para secagem com gás nitrogênio e derivatização.

A reação de derivatização ocorreu por adição de 40 μL de cloridrato de metoxiamina ($20\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ em piridina) que reagiu por 2 horas a 37°C em termomisturador e posteriormente adicionou-se 70 μL de MSTFA que reagiu por mais 30 minutos nas mesmas condições. A fase inferior (fração polar B) foi injetada sem nenhuma reação adicional. Para as frações (A e B), utilizou-se equipamento Shimadzu GCMS QP2010 Ultra com autoinjeter AOC-20i e biblioteca de espectro de massas NIST 2011. Os parâmetros de extração, derivatização e análise por cromatografia e espectrometria de massas seguiram metodologia descrita por Lisec et al. (2006). Um microlitro de cada amostra foi injetado no equipamento configurado com temperatura do injetor a 230°C , com razão de *split* para injeção de 1:50 para a fração A e injeção no modo *splitless* para a fração B. O gás hélio foi utilizado como carreador com fluxo de $2\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e velocidade linear como modo de controle de fluxo. A coluna capilar utilizada foi Rtx-5MS (30m x 0,25mm x 0,25 μm), com programação isotérmica iniciando por 2 minutos à 80°C , seguido de rampa de temperatura de 15°C por minuto até temperatura de 320°C na qual permaneceu por 6 minutos. Os parâmetros de espectrometria de massas foram os seguintes: as temperaturas da fonte de íons e interface foram de 250°C , faixa de varredura de massas de 70-600 m/z e 0,2 escaneamentos por segundo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 estão apresentados os teores de açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos quantificados no extrato metanólico de *C. frutescens*.

O total de açúcares foi 64,17 mg.g⁻¹, sendo a frutose a mais abundante com concentração de 27,87 mg.g⁻¹. Conforme avança o estádiode maturação dos frutos, ocorre uma redução nos teores de sacarose e estas são transformadas em frutose e glicose (NAVARRO et al., 2006). De acordo com PERSON et al. (2006), o teor de frutose em *C. annuum* variou entre 4.09 x 10⁻³ mg.g⁻¹ a 0.31x10⁻³ mg.g⁻¹, resultado inferior ao da pimentas *C. frutescens*.

O total de aminoácidos em pimentas do acesso de *C. frutescens* foi de 4,11 mg.g⁻¹, e a norvalina destacou-se com 1,14 mg.g⁻¹ seguida pela prolina com 0,93 mg.g⁻¹. De acordo com PERSON et al. (2006), o teor de norvalina resultou em 1,03 x 10⁻³ mg.g⁻¹ e pra prolina 1,13 x 10⁻³ mg.g⁻¹ em *C. annuum*, inferior ao observado em *C. frutescens*.

Nos ácidos orgânicos, o composto que mais se destacou individualmente foi o ácido butanodióico com 8,31 mg.g⁻¹ de um total de 10,85 mg.g⁻¹. O ácido butanodióico também conhecido como ácido succínico é um intermediário do ciclo de Krebs, corroborando com o metabolismo energético. Ácidos orgânicos são compostos que contêm grupos carboxilas em sua estrutura que desempenham diversas funções vitais as plantas e que nos frutos influenciam no sabor e aroma além da estabilidade e manutenção de qualidade (SANTOS et al., 2013).

Tabela 1 – Teor de metabólitos de extrato metanólico de pimenta (*Capsicum frutescens*) do BAG da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

Compostos	mg.g ⁻¹
Açúcares	64,17
Aminoácidos	4,11
Ácidos orgânicos	10,85

Na tabela 2 estão expressos os teores de hidrocarbonetos, ésteres e capsaicinoides presentes no extrato clorofórmico de *C. frutescens*. Os hidrocarbonetos são compostos orgânicos que possui apenas átomos de carbono e hidrogênio em sua estrutura. Nesse estudo foi possível observar teores de 0,88 mg.g⁻¹. O total de ésteres foi de 2,60 mg.g⁻¹.

Tabela 2 – Teor de metabólitos de extrato clorofórmico de pimenta (*Capsicum frutescens*) do BAG da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS

Compostos	mg.g ⁻¹
Hidrocarbonetos	0,88
Ésteres	2,60
Capsaicinoides	54,38

O teor de capsaicinoides em *C. frutescens* foi de 54,38 mg.g⁻¹. Dessa classe destacaram-se acapsaicina (29,11 mg.g⁻¹) e a dihidrocapsaicina (17,80 mg.g⁻¹), representando em média 87%. Para Nwokem et al. (2010) capsaicina e dihidrocapsaicina representam em média 90% do total de capsaicinoides. De acordo com Pino et al. 2007, o teor de capsaicinoides em pimentas de *C. chinense* cultivados em Cuba resultou em 0,45 mg.g⁻¹. Capsaicinoides são

compostos que causam a sensação de pungência dos frutos *Capsicum*, esses alcaloides são sintetizados a partir da ligação de uma vanilamina a um ácido graxo. (MAZOUREK et al., 2009).

4. CONCLUSÕES

Foi possível concluir que para o acesso estudado de *Capsicum frutescens* na fração A o composto que mais se destacou dentre os açúcares foi a frutose, nos aminoácidos a anovalinae para os ácidos orgânicos o que mais se destacou foi o ácido succínico. Na fração B identificou-se compostos pertencentes às classes de hidrocarbonetos, ésteres e capsaicinoides.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAE, H.; JAYAPRAKASHA, G.K.; CROSBY, K.; JIFON, J. L.; PATIL, B.S. **Extraction efficiency and validation of an HPLC method for flavonoid analysis in peppers.** Food Chemistry, v.130, p. 751-758, 2012.

BONTEMPO, M. **Pimenta e seus benefícios à saúde.** São Paulo: Alauê, 2007.

COSTA, L. V.; LOPES, M. T. G.; LOPES, R. e ALVES, S. R. M. **Polinização e fixação de frutos em *Capsicum chinense* Jacq.** Acta Amaz. 2008, v.38, n.2, p. 361-364.

HOWARD, L.R.; WILDMAN, R.E.C. **Antioxidant vitamin and phytochemical content of fresh and processed pepper fruit (*Capsicum annuum*).** In: WILDMAN, R.E.C. Handbook of nutraceuticals and functional foods. Boca Raton: CRC Press, ed. 2. 2007. p. 165-191.

LEMOINE, R. **Sucrose transporters in plants: update on function and structure.** Biochimica et Biophysica Acta Biomembranes, v. 1465, ed. 1-2, p. 246-262. 2000.

LISEC, J.; SCHAUER, N.; KOPKA, J.; WILLMITZER, L.; FERNIE, A.R. **Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants.** Nature Protocols, v. 1, p. 387-396. 2006.

NWOKEM, C.O.; AGBAJI, E.B.; KAGBU, J.A.; EKANEM, E.J. Determination of capsaicin content and pungency level of five different peppers grown in Nigeria. **New York Science Journal.** v.3(9), p.17-21. 2010.

PEARSON, J. CRAIG; STEER, T.; BARRIE. Daily changes in nitrate uptake and metabolism in *Capsicum annuum*. **Department of Agronomy and Horticultural Science,** University of Sydney, N.S.W. 2006.

REIFSCHNEIDER, F. J. B. (Org.). ***Capsicum: pimentas e pimentões no Brasil.*** Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia: Embrapa Hortaliças, 2000. 113p.

RIBEIRO, C. S. C.; LOPES, C. A.; CARVALHO, S. I. C.; HENZ, G. P.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. *Pimentas Capsicum*, Brasília Embrapa Hortaliças. 2008. 153 p.

RIBEIRO, C.S.C.; REIFSCHNEIDER, F.J.B. **Genética e melhoramento: Pimentas *Capsicum***. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2008. 55-69 p.

SOUZA, R. J. de; CASSALI, V. W. D. Cultivares de pimentão e pimentas. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, v 10, n 113, p 14-18, maio 1984.

ZENI, A.L.; BOSIO, F. Use of medicinal plants in a rural community of the Atlantic Forest – Nova Rússia, SC. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 6(1), p. 55-63, 2011.